



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107050471 A

(43)申请公布日 2017. 08. 18

(21)申请号 201611223697.4

(22)申请日 2016.12.27

(71)申请人 中国药科大学

地址 210009 江苏省南京市鼓楼区童家巷24号

(72)发明人 蔡挺 彭亚运 胡雄伟 金亮 曹征宇 吴照球

(74)专利代理机构 北京思创大成知识产权代理有限公司 11614

代理人 尹慧晶

(51)Int.Cl.

A61K 51/06(2006.01)

A61K 103/00(2006.01)

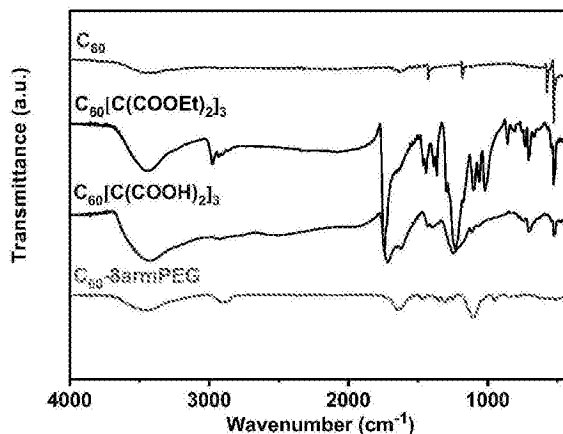
权利要求书2页 说明书5页 附图5页

(54)发明名称

基于富勒烯的靶向且具有快速清除特征的显像纳米探针及其制备方法和应用

(57)摘要

本发明公开了基于富勒烯的靶向且具有快速清除特征的显像纳米探针及其制备方法和应用,该纳米探针为⁶⁴Cu-NOTA-C₆₀-PEG-cRGD,其中⁶⁴Cu为正电子金属放射性核素,NOTA为双功能螯合剂p-SCN-Bn-NOTA,C₆₀为由60个碳原子构成的富勒烯,PEG为多臂-聚乙二醇-氨基,cRGD为特异性靶向整合素α_vβ₃的环状多肽Cyclo(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Cys)peptide。本发明纳米探针不仅能通过配体-受体作用特异性地靶向整合素α_vβ₃高表达的肿瘤组织,还能通过PET成像进行实时、非侵入的监测,更具有在体内快速清除的安全特征,从而实现对癌症进行安全有效地诊断。



1. 一种基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针,其特征在于:通式为 $^{64}\text{Cu-NOTA-C}_{60}\text{-PEG-cRGD}$;其中 ^{64}Cu 为放射性核素,NOTA为双功能整合剂, C_{60} 为由60个碳原子构成的富勒烯,PEG为多臂-聚乙二醇-氨基,cRGD为特异性靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的多肽。

2. 根据权利要求1所述的基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针,该PET显像纳米探针是通过 C_{60} 的聚乙二醇化、聚乙二醇化的 C_{60} 与NOTA偶联、偶联了NOTA的聚乙二醇化的 C_{60} 的cRGD修饰以及偶联物的 ^{64}Cu 标记步骤制备得到的。

3. 一种权利要求1所述的PET显像纳米探针的制备方法,其特征在於:该制备方法依次包括 C_{60} 的聚乙二醇化、聚乙二醇化的 C_{60} 与NOTA偶联、偶联了NOTA的聚乙二醇化的 C_{60} 的cRGD修饰以及偶联物的 ^{64}Cu 标记四个步骤,具体步骤如下:

S1. 将 C_{60} 溶于甲苯,并加入3~6倍当量于 C_{60} 的溴代丙二酸二乙酯,搅拌均匀,用恒压漏斗将溶有等当量于溴代丙二酸二乙酯的DBU的甲苯溶液逐滴加入上述混合液中,氩气保护,室温下反应,硅胶柱层析分离后,旋蒸除去溶剂,干燥得到 $\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOEt})_2]_n$,其中:Et为乙基, $n=1\sim 6$;将 $\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOEt})_2]_n$ 溶于甲苯,并分批加入10~100倍当量于 $\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOEt})_2]_n$ 的NaH,搅拌回流,反应结束冷却到室温后,用乙醇淬灭过量的NaH,生成的沉淀用甲苯和正己烷洗涤后,加入到1~4M的HCl水溶液中,再次生成的沉淀用1~4M的HCl水溶液和去离子水洗涤,干燥即得 $\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOH})_2]_n$,将所得 $\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOH})_2]_n$ 用无水DMSO或无水DMF溶解,并加入EDC和NHS活化羧基,随后将该活化液加入到多臂-聚乙二醇-氨基的PBS中,室温下搅拌6~12h,在水中透析除杂,冻干24~48h即得 $\text{C}_{60}\text{-PEG}$;

S2. 将S1中所得 $\text{C}_{60}\text{-PEG}$ 和1~2倍当量于PEG的NOTA一起加入CBS中孵育后,脱盐除杂,得到NOTA- $\text{C}_{60}\text{-PEG}$;

S3. 将10~20倍当量于PEG的异双功能交联剂GMBS加入S2中所得NOTA- $\text{C}_{60}\text{-PEG}$ 的PBS中,反应1~2h后,迅速超滤除去多余的GMBS,随后在TCEP存在的条件下,加入主动靶向配体在PBS中反应过夜。超滤脱盐除杂后,冻干24~48h即得NOTA- $\text{C}_{60}\text{-PEG-cRGD}$;

S4. 将 $^{64}\text{CuCl}_2$ 加入S3中所得NOTA- $\text{C}_{60}\text{-PEG-cRGD}$ 的醋酸盐缓冲溶液中,持续振荡孵育0.5~1h后,用脱盐柱提纯,得到 $^{64}\text{Cu-NOTA-C}_{60}\text{-PEG-cRGD}$ 。

4. 根据权利要求3所述的纳米探针的制备方法,其特征在於:所述步骤S1中,所述 $\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOH})_2]_n$, n 为1~6。

5. 根据权利要求3所述的PET显像纳米探针的制备方法,其特征在於:所述步骤S1中,活化 $\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOH})_2]_n$ 羧基所用的溶剂为无水DMSO或无水DMF。

6. 根据权利要求3所述的PET显像纳米探针的制备方法,其特征在於:所述步骤S1中,所述多臂-聚乙二醇-氨基,其臂数为4~8。

7. 根据权利要求3所述的PET显像纳米探针的制备方法,其特征在於:所述步骤S1中,所述的制得的 $\text{C}_{60}\text{-PEG}$ 中, C_{60} 和PEG的摩尔比为1:1~6。

8. 根据权利要求3所述的纳米探针的制备方法,其特征在於:所述步骤S2中,所述的NOTA为双功能整合剂p-SCN-Bn-NOTA。

9. 根据权利要求3所述的PET显像纳米探针的制备方法,其特征在於:所述步骤S3中,所述的特异性靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的主动靶向配体为cRGD肽。

10. 权利要求1或2所述的基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像

纳米探针在制备肿瘤相关疾病诊断试剂中的应用。

基于富勒烯的靶向且具有快速清除特征的显像纳米探针及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于医学影像技术领域,具体涉及一种基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 自从1985年富勒烯家族第一个成员 C_{60} 被发现以来,就以其独特的理化性质吸引了科学家浓厚的兴趣。 C_{60} 分子具有高度对称的球形结构,其Van der Waals尺寸为0.95-1.04nm,其作为第一类碳纳米材料,近年来频繁地被应用在生物医学领域。尽管 C_{60} 分子本身在水中的溶解度很低,人们发现一方面可以通过丰富的化学反应在其表面共价连接一系列亲水性基团,另一方面也可以利用非共价地超分子组装,通过主-客体包裹、胶束包埋等方法来提高 C_{60} 的水溶性和生物相容性。

[0003] 整合素 $\alpha_v\beta_3$ 由 α_v 亚基和 β_3 亚基组成,能特异性识别含RGD序列的多肽,介导整合素与细胞外基质的黏附。整合素 $\alpha_v\beta_3$ 在正常组织器官及成熟血管内皮细胞中不表达或低表达,在多种肿瘤(包括肺癌、成胶质细胞瘤、乳腺癌、骨肉瘤)细胞表面和新生血管内皮细胞中有高表达,在肿瘤的新生血管生成、侵袭和转移过程中起重要作用。cRGD肽(Arg-Gly-Asp)为含有精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸序列的环形多肽,1984年由Pierschbacher和Ruoslutherici首次发现和报道,从而RGD肽可以作为一种指示剂到达靶组织,并通过各种影像学方法得到显示。这类显像技术有望在肿瘤尚未发生形态学变化时早期诊断肿瘤。常用的显像技术包括利用放射性核素的PET、SPECT成像、MRI成像、超声成像和光学成像等。

[0004] 正电子发射断层显像(Positron Emission Tomography, PET)是利用某些放射性核素在衰变过程中产生的正电子湮没辐射和符合探测原理进行机体成像的计算机断层技术和装置,是目前肿瘤血管成像中较为成熟且应用最广泛的技术,它可以实现无创地非侵入、动态实时、准确定量地监测多功能载体在体内的分布和变化情况。PET显像具有灵敏度高、特异性高、全身显像、安全性好等众多优势,而RGD肽可特异性识别有新生血管的肿瘤组织,二者结合应用于肿瘤诊断,使早期诊断恶性肿瘤成为可能,具有现实的临床应用价值。

[0005] 纳米粒子经过适当的表面修饰,整合靶向递送和成像单元已经成为主流的制备纳米探针的趋势,但是这些纳米粒子由于一定程度上依赖于EPR效应,大部分会在网状内皮组织系统中大量富集,导致其只能经肝胆代谢缓慢而低效排出体外,带来了安全性方面的考虑。众所周知,肾清除的速度要远快于肝胆代谢。因此,制备一种具有肾清除性质的多功能纳米探针就显得尤其重要。如何使纳米粒子同时拥有高效肿瘤靶向和肾快速清除的功能至今仍是一大难题。目前,基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针的研究尚未见报道。

发明内容

[0006] 有鉴于此,本发明的目的在于提供一种基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速

清除特征的PET显像纳米探针。

[0007] 本发明另一目的提供一种上述基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针的制备方法。

[0008] 本发明还有一个目的是提供该探针在制备肿瘤相关疾病诊断试剂中的应用。

[0009] 本发明的目的是通过以下方式实现的：

[0010] 一种基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针，通式为 $^{64}\text{Cu-NOTA-C}_{60}\text{-PEG-cRGD}$ ；其中 ^{64}Cu 为放射性核素，NOTA为双功能螯合剂， C_{60} 为由60个碳原子构成的富勒烯，PEG为多臂-聚乙二醇-氨基，cRGD为特异性靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的多肽。该PET显像纳米探针是通过 C_{60} 的聚乙二醇化、聚乙二醇化的 C_{60} 与NOTA偶联、偶联了NOTA的聚乙二醇化的 C_{60} 的cRGD修饰以及偶联物的 ^{64}Cu 标记步骤制备得到的。

[0011] 上述基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针的制备方法依次包括 C_{60} 的聚乙二醇化、聚乙二醇化的 C_{60} 与NOTA偶联、偶联了NOTA的聚乙二醇化的 C_{60} 的cRGD修饰以及偶联物的 ^{64}Cu 标记四个步骤，具体步骤如下：

[0012] S1. 将 C_{60} 溶于甲苯，并加入3~6倍当量于 C_{60} 的溴代丙二酸二乙酯，搅拌均匀，用恒压漏斗将溶有等当量于溴代丙二酸二乙酯的DBU的甲苯溶液逐滴加入上述混合液中，氩气保护，室温下反应，硅胶柱层析分离后，旋蒸除去溶剂，干燥得到 $\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOEt})_2]_n$ ，其中：Et为乙基， $n=1\sim 6$ ；将 $\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOEt})_2]_n$ 溶于甲苯，并分批加入10~100倍当量于 $\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOEt})_2]_n$ 的NaH，搅拌回流（优选70~100℃条件），反应结束冷却到室温后，用乙醇淬灭过量的NaH，生成的沉淀用甲苯和正己烷洗涤后，加入到1~4M的HCl水溶液中，再次生成的沉淀用1~4M的HCl水溶液和去离子水洗涤，干燥即得 $\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOH})_2]_n$ ，将所得 $\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOH})_2]_n$ 用无水DMSO或无水DMF溶解，并加入EDC和NHS活化羧基，随后将该活化液加入到预先配制好的多臂-PEG-氨基的PBS中，室温下搅拌6~12h，在水中透析除杂，冻干24~48h即得 $\text{C}_{60}\text{-PEG}$ ；

[0013] S2. 将S1中所得 $\text{C}_{60}\text{-PEG}$ 和1~2倍当量于PEG的NOTA一起加入CBS中孵育后，脱盐除杂，得到NOTA- $\text{C}_{60}\text{-PEG}$ ；

[0014] S3. 将10~20倍当量于PEG的异双功能交联剂GMBS加入S2中所得NOTA- $\text{C}_{60}\text{-PEG}$ 的PBS中，反应1~2h后，迅速超滤除去多余的GMBS，随后在TCEP存在的条件下，加入主动靶向配体（优选等当量于GMBS）在PBS中反应过夜。超滤脱盐除杂后，冻干24~48h即得NOTA- $\text{C}_{60}\text{-PEG-cRGD}$ ；

[0015] S4. 将 $^{64}\text{CuCl}_2$ 加入S3中所得NOTA- $\text{C}_{60}\text{-PEG-cRGD}$ 的醋酸盐缓冲溶液中，持续振荡孵育0.5~1h后，用脱盐柱提纯，得到 $^{64}\text{Cu-NOTA-C}_{60}\text{-PEG-cRGD}$ 。

[0016] 为实现上述目的，本发明还提供一种根据如上所述的基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针在制备肿瘤相关疾病诊断试剂中的应用。

[0017] 本发明的制备过程所述步骤S1中，所述 $\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOH})_2]_n$ ， n 为1~6。活化 $\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOH})_2]_n$ 羧基所用的溶剂为无水DMSO或无水DMF。所述多臂-聚乙二醇-氨基的臂数为4~8。所述的制得的 $\text{C}_{60}\text{-PEG}$ 中， C_{60} 和PEG的摩尔比为1:1~6。

[0018] 本发明的制备过程所述步骤S2中，所述的NOTA为双功能螯合剂p-SCN-Bn-NOTA；所述步骤S4中，所述的PET标记为正电子金属放射性核素 ^{64}Cu 。

[0019] 本发明的制备过程所述步骤S3中，所述的特异性靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的主动靶向配体为cRGD肽。

[0020] 本发明所述的基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针在制备肿瘤相关疾病诊断试剂中应用。本发明纳米探针不仅能通过配体-受体作用特异性地靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 高表达的肿瘤组织,还能通过PET成像进行实时的、非侵入的监测,更具有在体内快速清除的安全特征,从而实现了对癌症进行安全有效地诊断。

[0021] 与现有技术比较,本发明的有益效果是:

[0022] 首先,本发明采用表面多臂聚乙二醇修饰的 C_{60} 分子作为载体,其PEG化程度高、水溶性好、生物相容性高,特别是能在体内快速被清除,解决了常规纳米探针在体内清除较慢的毒性担忧。

[0023] 第二,本发明将靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的cRGD多肽通过click反应偶联到快速清除的 C_{60} -PEG上,反应迅速、高效,纯化简单,可重现性高;在保证体内快速清除的安全性考虑的同时,还兼顾了肿瘤靶向递送的有效性考虑。

[0024] 第三,本发明还将高效双功能整合剂NOTA通过一步孵育反应偶联到快速清除的 C_{60} -PEG上,选取与NOTA具有较强螯合作用的 ^{64}Cu 进行标记,具有标记步骤简单、反应耗时短、标记产率高、放化纯度高、血清稳定性好等优势。

[0025] 本发明提供的基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针的制备方法简单,合成的基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针兼具肿瘤靶向效果显著和体内快速清除安全性高的优点,通过PET成像可以对癌症进行早期诊断,具有现实的临床应用价值。

附图说明

[0026] 为了使本发明的内容更容易被清楚的理解,下面根据本发明的具体实施例,结合附图对本发明作进一步详细的说明。

[0027] 图1为本发明的实施例中的基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针的合成路线图;

[0028] 图2为本发明的实施例中样品的红外图。

[0029] 图3为本发明的实施例中样品的热重图。

[0030] 图4为本发明的实施例中样品的 $^1\text{H-NMR}$ 图。

[0031] 图5为本发明的实施例中NOTA- C_{60} -8armPEG-cRGD的DLS图。

[0032] 图6为本发明的实施例中NOTA- C_{60} -8armPEG-cRGD的AFM图。

[0033] 图7为本发明的实施例中标记样品的在PBS中和小鼠血清的稳定性结果图。

[0034] 图8为本发明的应用实施例中整合素 $\alpha_v\beta_3$ 高表达细胞株荷瘤鼠尾静脉注射

[0035] NOTA- C_{60} -8armPEG-cRGD后的PET成像图。

具体实施方式

[0036] 以下通过具体实施例对本发明技术方案进行进一步解释说明:

[0037] 实施例1

[0038] 实施例1的基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针为: ^{64}Cu -NOTA- C_{60} -8armPEG-cRGD,其中 ^{64}Cu 为正电子金属放射性核素,NOTA为双功能螯合剂p-SCN-Bn-NOTA, C_{60} 为由60个碳原子构成的富勒烯,8armPEG为8臂-聚乙二醇-氨基,cRGD为

特异性靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的环状多肽Cyclo(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Cys) peptide。

[0039] 本发明实施例的基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针的合成路线图如图1所示,制备方法依次包括C₆₀的聚乙二醇化、聚乙二醇化的C₆₀与NOTA偶联、偶联了NOTA的聚乙二醇化的C₆₀衍生物的cRGD修饰以及对其进行⁶⁴Cu标记四个步骤,其具体的制备操作如下:

[0040] S1.将253mg C₆₀溶于50ml甲苯,并加入200 μ L溴代丙二酸二乙酯,搅拌均匀,用恒压漏斗将溶有173 μ L DBU的10ml甲苯溶液逐滴加入上述混合液中,氩气保护,室温反应10h后,硅胶柱层析分离后,旋蒸除去溶剂,干燥得到C₆₀[C(COOEt)₂]₃,其中:Et为乙基。将120mg C₆₀[C(COOEt)₂]₃溶于50ml甲苯,并分批加入90mg NaH,于80°C下搅拌回流10h,反应结束冷却到室温后,用5ml乙醇淬灭过量的NaH,生成的沉淀用甲苯和正己烷洗涤后,加入到4M HCl水溶液中,再次生成的沉淀用4M HCl水溶液和去离子水洗涤,干燥即得C₆₀[C(COOH)₂]₃。取5mg所得C₆₀[C(COOH)₂]₃溶于2ml无水DMSO中,加入3倍当量的EDC和NHS,室温下搅拌15min以活化羧基,随后将该活化液加入到15ml预先配制好的溶有150mg 8arm-PEG-NH₂(分子量=10k)的pH7.4的PBS中,室温下搅拌6h,用截留分子量10k Da的透析袋在水中透析除杂,冻干24h,得C₆₀-8armPEG。

[0041] S2.取5mg S1中所得C₆₀-8armPEG和0.6mg p-SCN-Bn-NOTA一起加入2ml pH9.0的CBS中室温下孵育2h后,用截留分子量10k Da的超滤管脱盐除杂,得到NOTA-C₆₀-PEG。

[0042] S3.将S2中所得NOTA-C₆₀-8armPEG用pH7.4的PBS稀释到2ml,并加入异双功能交联剂GMBS 6mg,持续搅拌2h后,立即超滤除去过量的GMBS,随即加入2ml预先溶有0.5mg和12mg cRGD多肽的pH7.4的PBS中,室温下搅拌过夜。同法超滤脱盐、除去过量cRGD多肽,冻干24h即得NOTA-C₆₀-8armPEG-cRGD。

[0043] S4.取50 μ g S3中所得NOTA-C₆₀-PEG-cRGD溶解于1ml醋酸盐缓冲溶液中,加入⁶⁴CuCl₂(~74MBq),调节反应pH到5.5。37°C下持续振荡(350rpm)孵育1h,结束后反应液用PBS过PD-10柱提纯,得到⁶⁴Cu-NOTA-C₆₀-8armPEG-cRGD。

[0044] 下面对上述合成过程中的产物进行表征:

[0045] 图2为实施例1样品的红外光谱图。相较于C₆₀,所制得的C₆₀[C(COOEt)₂]₃在2977-2867cm⁻¹(-CH₃&-CH₂),1743cm⁻¹(-C=O)处显示出明显的特征峰,验证了Bingle环加成反应的成功实现。同时,C₆₀[C(COOH)₂]₃相较于C₆₀[C(COOEt)₂]₃的红外图谱中,2977-2867cm⁻¹(-CH₃&-CH₂)处峰的消失以及1743cm⁻¹(-C=O)处酯羰基的峰的稍稍红移到1720cm⁻¹(-C=O),表明C₆₀[C(COOEt)₂]₃成功水解并水解得很完全。随后的C₆₀-8armPEG图谱较之C₆₀[C(COOH)₂]₃,羰基峰从1720cm⁻¹(-C=O,羧酸)再次红移到1655cm⁻¹(-C=O,酰胺)处,联同对应与PEG的2850cm⁻¹(-CH₂-)处和1105cm⁻¹(C-O-C)处的新的较强的特征吸收峰,共同证实了8armPEG的成功连接到C₆₀[C(COOH)₂]₃上。

[0046] 图3为实施例1样品的热重分析曲线。C₆₀[C(COOH)₂]₃由两步热分解并最终达到平台期,在450°C失重到30%。8armPEG在450°C近似失重完全,失重到1.8%。C₆₀-8armPEG在450°C失重到5.7%。这样,C₆₀-8armPEG中C₆₀和8armPEG的摩尔比约为1:2。

[0047] 图4为实施例1样品的¹H-NMR谱图。NOTA-C₆₀-PEG-8armPEG的谱图中,7.10-7.30ppm处的峰对应于p-SCN-Bn-NOTA上的苯环氢,证实了NOTA成功的偶联到C₆₀-8armPEG上;而NOTA-C₆₀-PEG-8armPEG-cRGD的谱图中,cRGD中的芳环氢则使该区域的峰进一步增强,1.50-

3.50ppm处新出现的峰对应cRGD环性多肽侧链上的亚甲基氢。因此,对¹H-NMR谱的结果分析证实了NOTA-C₆₀-PEG-8armPEG-cRGD的成功制备。

[0048] 图5、6为实施例1样品NOTA-C₆₀-PEG-8armPEG-cRGD的DLS和AFM图,该样品的水合粒径为142nm,AFM粒径为100-120nm。

[0049] 实施例1样品⁶⁴Cu-NOTA-C₆₀-8armPEG-cRGD的标记率为75%,PD-10柱纯化后放化纯大于95%。图7为实施例1样品⁶⁴Cu-NOTA-C₆₀-8armPEG-cRGD的⁶⁴Cu标记的血清稳定性检测结果。该样品在37℃下孵育,PBS和小鼠血清中均比较稳定,放制24h后,放化纯度仅略有下降,但仍大于91%。

[0050] 实施例2

[0051] 小动物体内的⁶⁴Cu-NOTA-C₆₀-8armPEG-cRGD的生物分布和PET成像:

[0052] 利用种植了整合素 $\alpha_v\beta_3$ 高表达的U87MG肿瘤小鼠模型,尾静脉注射实施例1制备的⁶⁴Cu-NOTA-C₆₀-8armPEG-cRGD,注射辐射剂量为10MBq,分别于注射后0.5h、2h、16h、24h时间点进行PET成像,结果如图8所示。从PET成像结果可知,肿瘤部位早在0.5h即可在观测到有效摄取,而在2h达到稳态并一直稳定持续到24h,体现了良好的靶向性。同时,膀胱部位的信号由0.5h、2h时间点处的主导地位逐渐减少到16h、24h的痕量,体现了样品以肾清除的方式快速从体内清除除去的特点。

[0053] 由上述实施例可知,上述实施例制备的⁶⁴Cu-NOTA-C₆₀-8armPEG-cRGD纳米探针,具体制备方法简单,合成的基于富勒烯的靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的具有快速清除特征的PET显像纳米探针兼具肿瘤靶向效果显著和体内快速清除安全性高的优点,通过PET成像可以对癌症进行早期诊断,具有现实的临床应用价值。

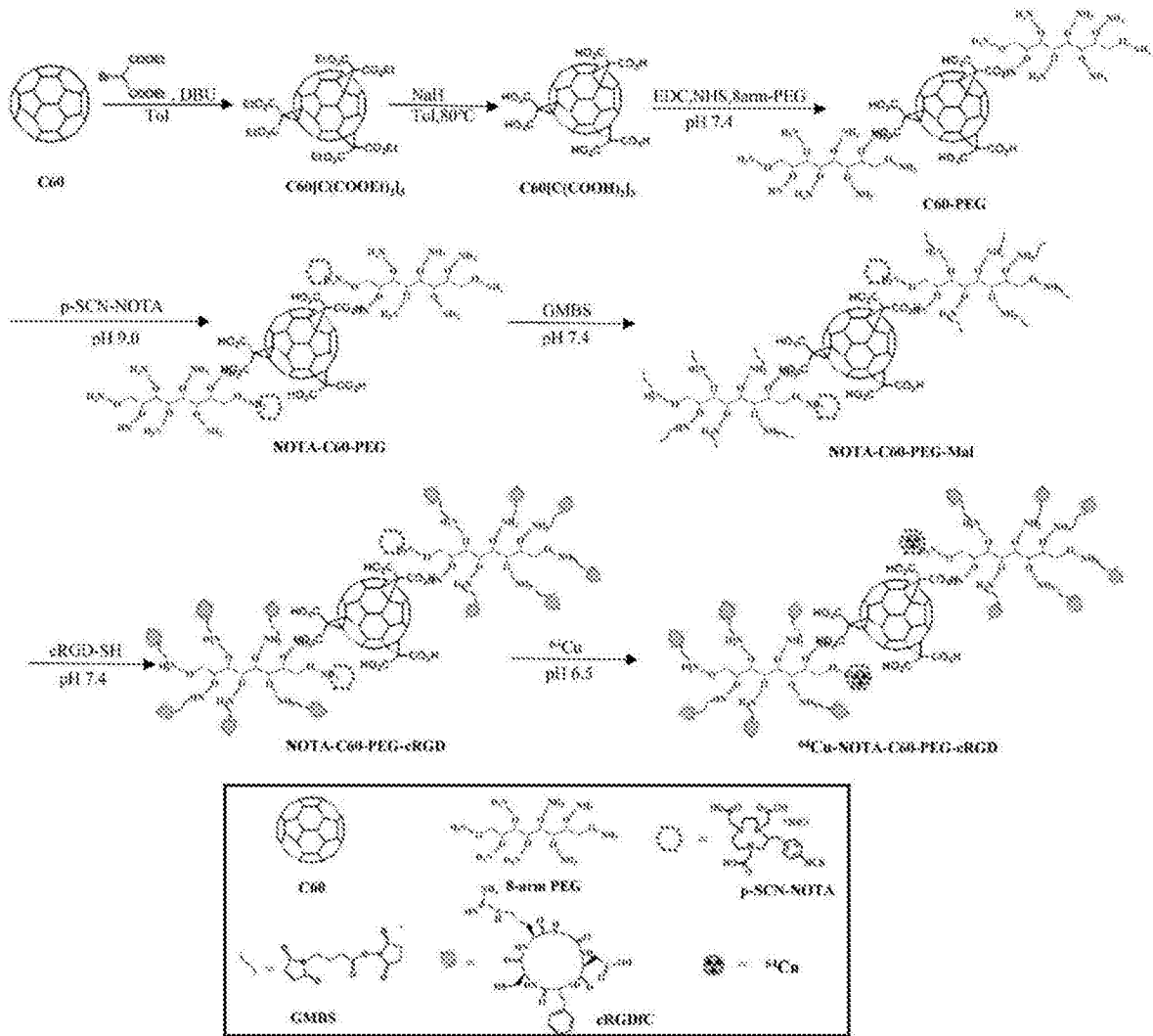


图1

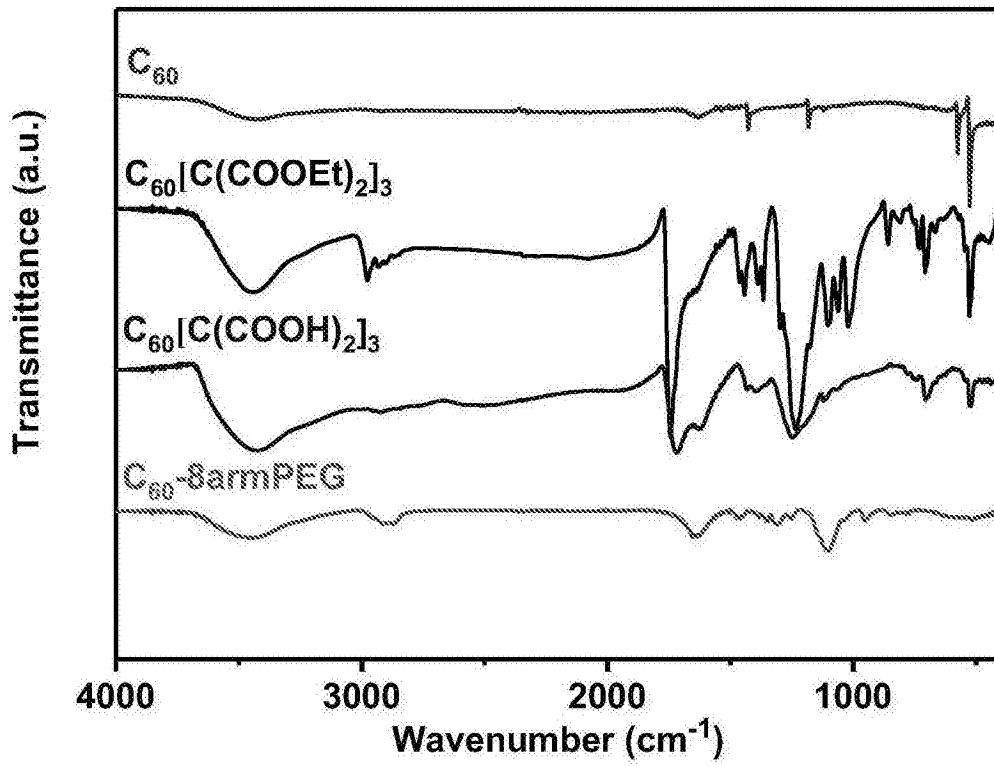


图2

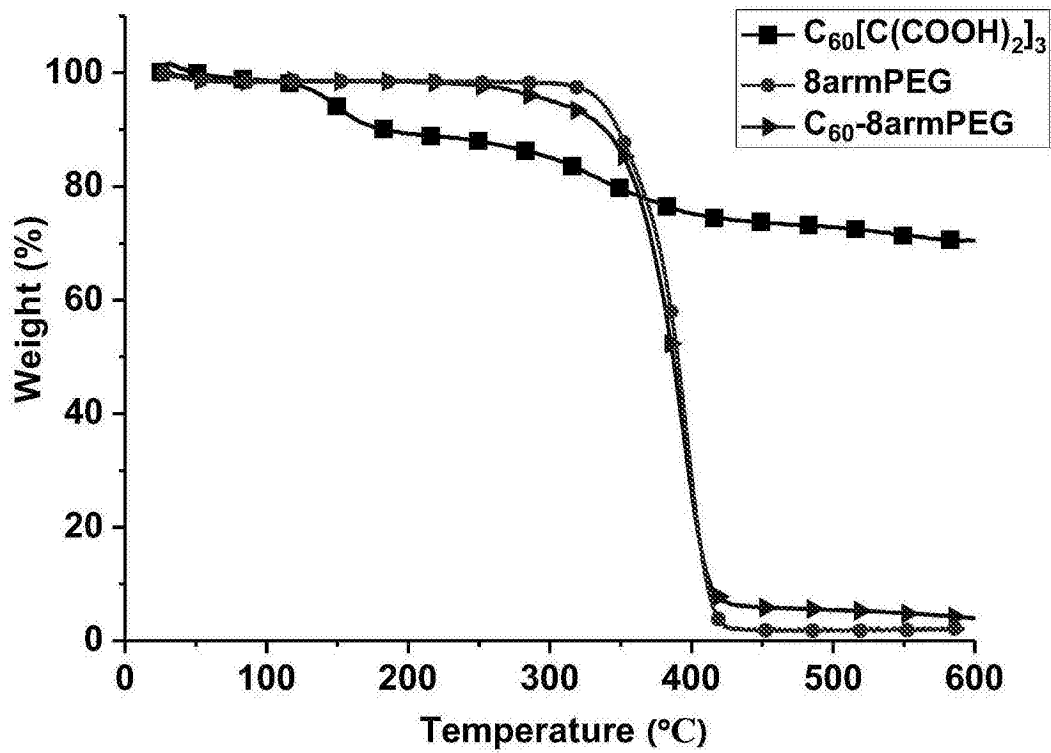


图3

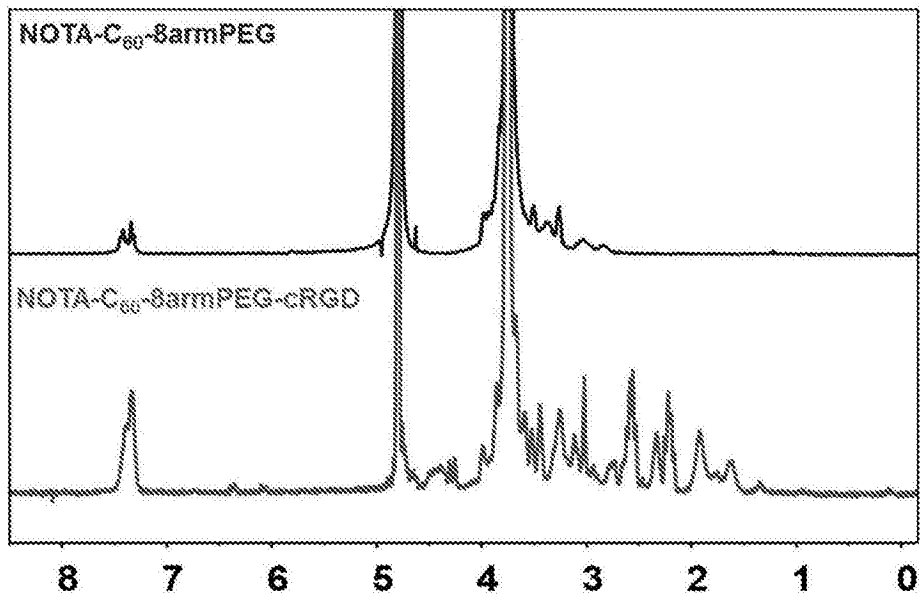


图4

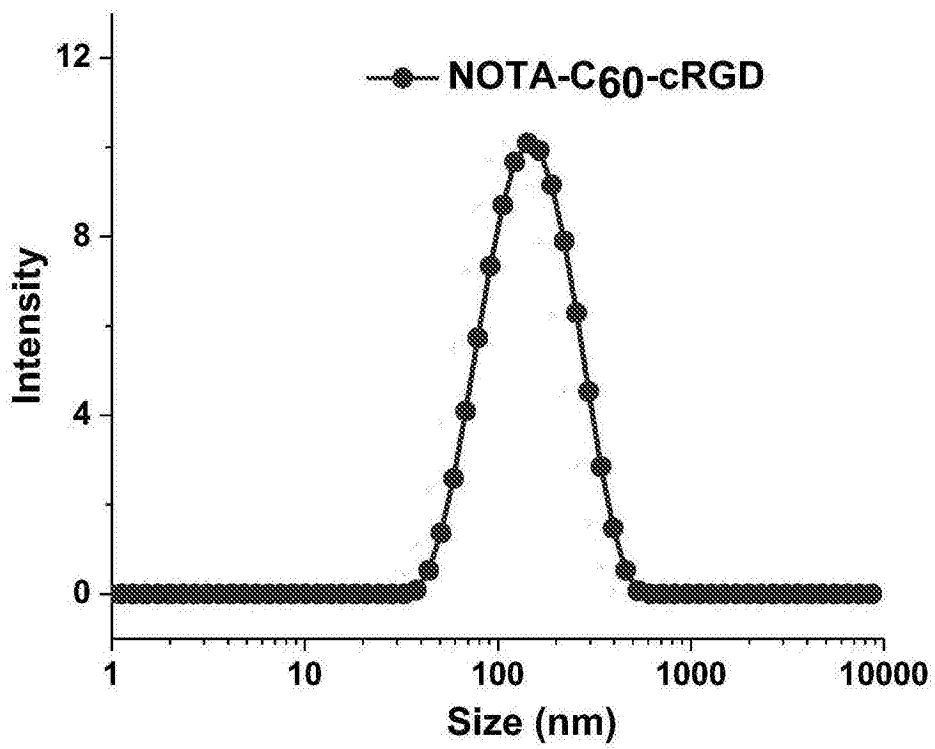


图5

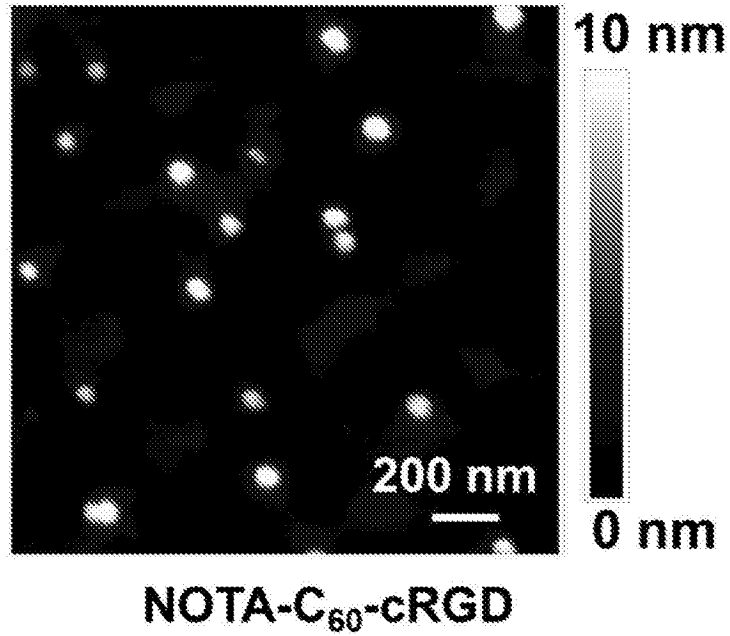


图6

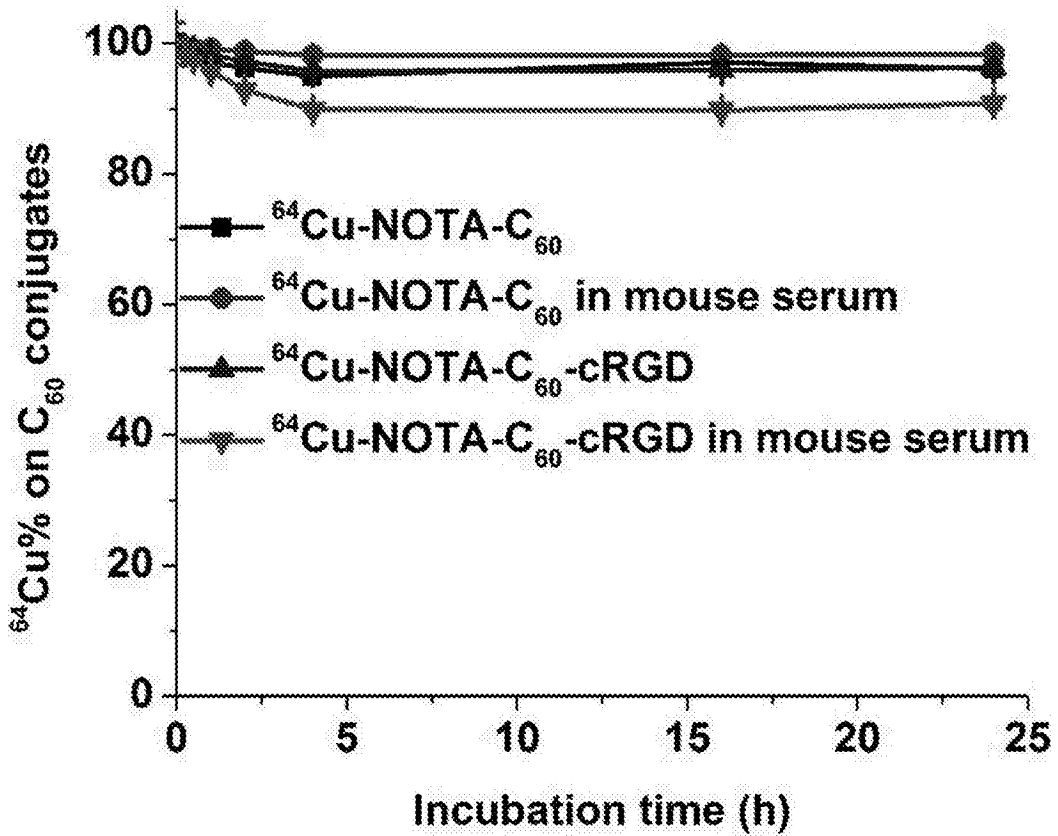


图7

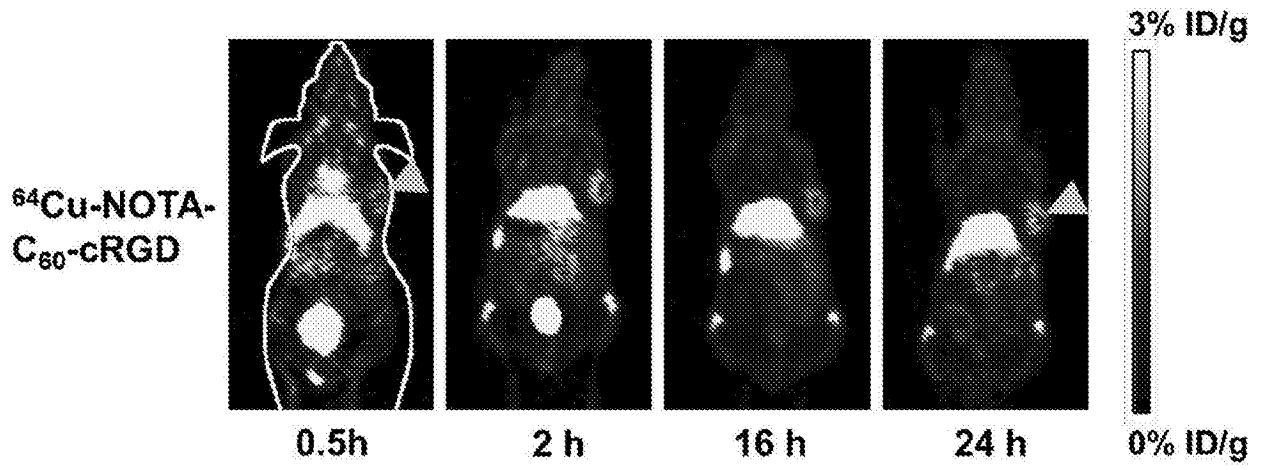


图8